

pediátricos trasplantados de hígado y seguidos en el laboratorio. 2) Detección de autoanticuerpos raros e inusuales en triple tejido y HEP-2. 3) Identificación de los antígenos reconocidos por los autoanticuerpos.

**Materiales y métodos.** En este estudio se han incluido 96 pacientes pediátricos trasplantados de hígado y con un tiempo postrasplante igual o mayor de 12 meses. Se detectaron Autoanticuerpos no órgano-específicos: anticuerpos antinucleares (ANA), anti músculo liso (AML), antimitocondriales (AMA) y antimicrosomales de hígado y riñón (LKM), anti citosol hepático tipo 1 (LC1) por inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre portas de triple tejido de rata y células HEP-2 humanas (Euroimmun) considerándose positivo los títulos > 1/80. Para la identificación de los antígenos se empleó un Inmunoblot (IMB) sobre extracto de hígado humano donante y un dot-blot perfil hepático de proteínas purificadas ó recombinantes (Liver dot De-TEC).

**Resultados.** 1) De los 96 pacientes se detectaron 14 ANA positivos (14,6%), 2 con patrón homogéneo, 9 con patrón moteado y 3 con patrón nucleolar, todos a título medio-bajo excepto un caso que presentó títulos elevados. En tres pacientes se detectaron AML (3,1%) todos a títulos elevados. Un paciente con AMA (1%) a título elevado. Un paciente con Ac anti LKM (1%) a título elevado. Un paciente con LC1 (1%). 2) Dentro de los patrones inusuales específicos de hígado, se encuentra la tinción de canalículos biliares y sinusoides hepáticos. Sobre células HEP-2 destaca la presencia de un patrón citoplásmico granular y citoesqueleto. 3) Los antígenos identificados reconocidos por los autoanticuerpos en HEP-2 fueron midbody, NuMa y fibrilarina. Los AML reconocieron F-actina. Los AMA reconocieron la deshidrogenasa de cetoácidos de cadena ramificada. La especificidad del Ac anti LKM fue el citocromo P450-IID6. Los Ac anti citosol hepático reconocieron a la proteína formiminotransferasa ciclodeaminasa (LC1). La identificación del antígeno reconocido por los Ac anti canalículos biliares fue la proteína BSEP que se expresa exclusivamente en hígado.

**Conclusión.** En nuestra serie aparecen con poca frecuencia autoanticuerpos no órgano-específicos a título elevado después del trasplante hepático pediátrico.

De los autoanticuerpos raros e inusuales específicos del tejido hepático, hemos identificado el antígeno de la mayoría de los anticuerpos anti canalículos biliares como la proteína BESEP.

Es importante, en el seguimiento de los pacientes post-trasplante hepático, la detección de anticuerpos, la determinación de su especificidad antigénica y el estudio de la relación de los parámetros clínicos con los resultados del laboratorio.

## P-018

### ANÁLISIS DE LAS ALTERACIONES EN LA EXPRESIÓN DE CITOQUINAS Y DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO.

S. García-Rodríguez<sup>1</sup>, E. Zumaquero-Martínez<sup>1</sup>, E.J. Pavón-Castillero<sup>1</sup>, P. Navarro-Cuesta<sup>1</sup>, S. Arias-Santiago<sup>2</sup>, J.L. Callejas-Rubio<sup>3</sup>, N. Ortego-Centeno<sup>3</sup>, J. Sancho-López<sup>2</sup>, M. Zubiaur-Marcos<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto Parasitología y Biomedicina, López-Neyra, CSIC, ARMILLA. <sup>2</sup>Servicio de Dermatología. Hospital Clínico Universitario San Cecilio, Granada. <sup>3</sup>Unidad de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas, Hospital Clínico San Cecilio, Granada.

**Objetivo.** En la patogénesis del Lupus Eritematoso Sistémico (LES) están implicados factores genéticos y ambientales que tienen como consecuencia alteraciones en la regulación del sistema inmune. Se han evaluado las alteraciones en los niveles plasmáticos y de expresión de

un panel de citoquinas (pro-inflamatorias y anti-inflamatorias), así como de los factores de transcripción que determinan la selección de linaje de células T en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) de pacientes con LES respecto a controles sanos.

**Material y métodos.** Se determinó la concentración plasmática de 10 citoquinas: IL-1beta, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IFN-gamma y TNF-alfa en 56 pacientes con LES (SLEDAI 0-20) y 49 controles sanos mediante Bio-Plex precision pro assay (Bio-rad). En un subgrupo de 13 pacientes (SLEDAI 0-4) y 5 controles sanos se analizó en PBMCs la expresión génica relativa a controles sanos, mediante PCR cuantitativa a tiempo real de IL-1 beta, IL-2, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12 (p70), IFN-gamma y TNF-alfa y de los factores de transcripción: T-bet (Th1), GATA3 (Th2), Foxp3 (Treg) y ROR-gamma-t (Th17); así como la expresión de los genes que codifican para las proteínas cinasas implicadas en señalización y supervivencia celular: MAPK1 y AKT1.

**Resultados.** Los pacientes con LES presentaron niveles plasmáticos significativamente elevados de las 10 citoquinas testadas. IL-6, IL-2, IL-5, IL-10, e IL-13 eran las que mostraban un mayor incremento en relación a los controles sanos. En el subgrupo de 13 pacientes esta aumentada la expresión génica respecto a los controles sanos de IL-2, IL-6, IL-10, IL-12 e IFN-gamma estos aumentos son paralelos a sus niveles plasmáticos.

Se observó que la ratio T-bet (Th1)/GATA3 (Th2) esta aumentada en todos los pacientes de LES analizados con respecto a controles sanos, no se observó correlación con el SLEDAI. Se observa una correlación entre los niveles de expresión de T-bet con ROR-gamma-t (Th17) (Spearman  $r=0.8956$ ,  $p<0,0001$ ); así como entre la expresión de IL-6 y ROR-gamma-t ( $r=0.6264$ ,  $p<0,0220$ ). 3) 7 de los 13 pacientes de LES que presentan aumentos en la expresión de T-bet, presentan igualmente aumentos en la expresión de Foxp3 (Treg), ROR-gamma-t(Th17), MAPK1 y AKT1.

**Conclusiones.** Los pacientes con LES presentan niveles plasmáticos aumentados de citoquinas proinflamatorias (IL-6), Th0 (IL-2) y Th2 (IL-5, IL-10 e IL-13), confirmándose dicha disregulación a nivel de expresión de los genes que codifican para algunas de estas citoquinas. Esta situación proinflamatoria se confirma con el aumento del balance T-bet (Th1)/GATA3 (Th2) y de la expresión ROR-gamma-t (Th17).

## P-019

### ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE PROTEÍNAS EN EL SUERO DE RATONES C57BL/6 SILVESTRES RESPECTO A RATONES C57BL/6 DEFICIENTES PARA CD38 EN UN MODELO DE ARTRITIS REUMATOIDE.

A. Rosal-Vela<sup>1</sup>, J. Postigo<sup>2</sup>, S. García-Rodríguez<sup>1</sup>, E. Zumaquero<sup>1</sup>, M.V. Longobardo<sup>1</sup>, A. Lario<sup>1</sup>, P. Navarro<sup>1</sup>, R. Merino<sup>3</sup>, J. Merino<sup>2</sup>, M. Zubiaur<sup>1</sup>, J. Sancho<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Parasitología y Biomedicina "López-Neyra", CSIC, Armilla, Spain. <sup>2</sup>Facultad de Medicina, Universidad de Cantabria, Santander. <sup>3</sup>Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, CSIC.

El suero es una herramienta de diagnóstico muy válida y fuente de información acerca del estado fisiológico del individuo. El estudio de la expresión diferencial de proteínas séricas puede ser útil en la búsqueda de biomarcadores específicos de enfermedad. La técnica de Proteomimer® permite reducir el rango dinámico del proteoma sérico disminuyendo la concentración de las proteínas mayoritarias y aumentando la de las menos abundantes, consiguiéndose una mayor diversidad de especies proteicas.

**Objetivo.** Análisis proteómico del suero mediante expresión diferencial 2-D-DIGE para el diagnóstico molecular de la artritis por inmu-